



**UNIVERSIDAD DE LAMBAYEQUE**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**TESIS**

**Bacterias patógenas y sus condiciones ambientales en las lagunas de  
estabilización del distrito de San José - Lambayeque 2017**

**PRESENTADA PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO  
AMBIENTAL**

**AUTORA:**

**BACH. GABRIEL PÉREZ, NELVI YULISSA**

***Chiclayo – Mayo del 2018***

**FIRMA DEL ASESOR Y JURADOS DE TESIS**

---

**Mgtr. Cesar Alberto Cabrejos Montalvo.**  
**ASESOR**

---

**Mgtr. Ana María Juárez Chunga**  
**PRESIDENTE**

---

**Dr. Eduardo Julio Tejada Sánchez**  
**SECRETARIO**

---

**Ing. Luis Fernando Terán Bazán**  
**VOCAL**

## **DEDICATORIA**

A Dios; por permitirme cumplir cada una de mis metas trazadas, por la fortaleza para superar los obstáculos de la vida y por guiarme por el camino del bien tanto en lo profesional como en lo emocional.

A mis padres; por ser el pilar fundamental de mi existencia, por el inmenso esfuerzo en brindarme una buena formación llena de valores basada en el amor, confianza, comprensión, paciencia y lealtad; porque a pesar de los obstáculos de la vida, siempre sobrepasaron la valla para apoyarme incondicionalmente en todo momento.

A mis amigos que siempre me brindan su apoyo incondicional para seguir adelante.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por su infinita bondad y guiar cada paso que doy en el camino, por darme valor, salud y fortaleza para culminar una importante etapa de mi vida profesional.

A mis padres por apoyarme en los momentos más difíciles y más gloriosos de mí vida, por brindarme sus enseñanzas y valores para cumplir mis metas trazadas y crecer como persona.

A mi asesor, César Alberto Cabrejos Montalvo, por su confianza, y apoyo en mi etapa de estudiante, es un excelente docente y persona, quien con sus enseñanzas y respaldo hizo posible la realización de esta investigación.

A cada uno de mis profesores, quienes me brindaron sus enseñanzas y me guiaron durante todo el desarrollo de mi carrera profesional.

## CONTENIDO

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>III</b>
<b>AGRADECIMIENTO .....</b>	<b>IV</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>X</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
<b>II. ANTECEDENTES .....</b>	<b>13</b>
2.1. Ámbito de estudio.....	13
2.2. Antecedentes bibliográficos.....	13
2.3. Bases teórico – científicas.....	16
2.3.1. Aguas residuales .....	16
2.3.2. Tratamiento de aguas residuales .....	21
2.3.3. Microorganismos patógenos.....	25
2.4. Marco legal.....	29
2.5. Definición de términos básicos.....	31
2.6. Hipótesis.....	33
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
3.1. Variables y operacionalización de variables.....	34
3.2. Tipo de investigación.....	34
3.3. Diseño de investigación.....	35
3.4. Población, muestra de estudio y muestreo.....	35
3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de recojo de información .....	36
3.5.1. Aislamiento e identificación de bacterias patógenas .....	36
3.5.2. Determinación de condiciones ambientales fisicoquímicas.....	40
3.6. Procesamiento de datos y análisis estadísticos .....	43

<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>44</b>
4.1. Características del ámbito de estudio.....	44
4.2. Aislamiento e identificación de bacterias patógenas .....	44
4.3. Determinación de condiciones ambientales .....	46
4.3.1. Temperatura: .....	46
4.3.2. Color, olor: .....	47
4.3.3. Potencial de Hidrógeno (pH): .....	47
4.3.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO):.....	47
4.3.5. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> ): .....	48
<b>V. DISCUSIÓN .....</b>	<b>49</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>51</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>53</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>56</b>

## INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1:</i> Límites Máximos Permisibles de efluentes.....	21
<i>Tabla 2:</i> Operacionalización de variables.....	34
<i>Tabla 3:</i> Relación de diluciones a partir de los valores de DQO.....	42
<i>Tabla 4:</i> Bacterias Patógenas identificadas.....	44
<i>Tabla 5:</i> Comportamiento bioquímico en la identificación de los géneros de la familia enterobacteriaceae.....	58
<i>Tabla 6:</i> Comportamiento bioquímico en la identificación de algunas especies de la familia enterobacteriaceae.....	58
<i>Tabla 7:</i> Pruebas bioquímicas .....	64

## INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1:</i> Valores obtenidos de los efluentes de las lagunas de estabilización en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017. ....	46
<i>Figura 2:</i> Valores de temperatura obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas. ....	46
<i>Figura 3:</i> Valores de pH obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas. ....	47
<i>Figura 4:</i> Valores de DQO obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas. ....	48
<i>Figura 5:</i> Valores de DBO <sub>5</sub> obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas. ....	48
<i>Figura 6:</i> Diagrama del MÉTODO: Aislamiento e identificación de bacterias de los géneros: Escherichia, Salmonella, Shigella y otros; adaptado por Francia, 2015.....	57
<i>Figura 7:</i> Zona de muestreo: Lagunas de estabilización. ....	59
<i>Figura 8:</i> Toma de muestras de agua de las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas. ....	60
<i>Figura 9:</i> Las muestras tomadas son rotuladas y llevadas a Laboratorio Multifuncional.....	60
<i>Figura 10:</i> Diluciones, las cuales se llevaron a cabo utilizando como cultivo Caldo Nutritivo y Caldo Brilla, se deja encubar por 24h a 37°C.....	61
<i>Figura 11:</i> Medición de pH a cada una de las muestras, utilizando cintas peachímetros. ....	62
<i>Figura 12:</i> Siembra en placas Petri con medio de cultivo Agar Salmonella Shigela y Agar MacConkey, se encuba por 24h a 37°C.....	62
<i>Figura 13:</i> Crecimiento de colonias bacterianas en placas Petri con medio de cultivo Agar Salmonella Shigela y Agar MacConkey .....	63
<i>Figura 14:</i> Pruebas bioquímicas, mediante su lectura se identifica las bacterias patógenas.....	63



## RESUMEN

Hoy en día el uso de aguas residuales en la agricultura es una alternativa utilizada para la incrementación de la producción agrícola y para controlar la contaminación ambiental, pero puede constituir un problema sanitario debido a la presencia de microorganismos patógenos. Por este motivo, en el presente estudio se propuso el objetivo de Aislar e Identificar bacterias patógenas y determinar sus condiciones ambientales fisicoquímicas en las lagunas de estabilización San José – Lambayeque 2017, con la finalidad de contribuir en la investigación de la eficiencia del tratamiento y si el agua está en óptimas condiciones para ser reusada en la agricultura.

Se analizó el agua de las 10 lagunas de estabilización, (5 anaerobias y 5 facultativas), en las cuales se identificaron las bacterias patógenas *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Escherichia blattae* *Providencia sp.*, *Salmonella sp.*, asimismo los valores obtenidos de coliformes totales de las lagunas anaerobias superan los LMP del DS N° 003 – 2010 MINAM, lo cual indica que el agua no se encuentra en óptimas condiciones para ser utilizadas en la agricultura. Asimismo frente a las condiciones ambientales fisicoquímicas se obtuvo los siguientes resultados: pH varía entre 7-8, Temperatura 25-26 °C, color verde oscuro, olor fétido por la presencia de materia orgánica, en DBO<sub>5</sub> (112.7 mg/L) y DQO (234,3 mg/mL) los valores obtenidos superan los Límites Máximos Permisibles del Decreto Supremo N° 003-2010- MINAM.

Palabras claves: Bacterias patógenas, lagunas de estabilización San José, condiciones ambientales.

## ABSTRACT

Nowadays the use of wastewater in agriculture is an alternative used for the increase of agricultural production and to control environmental pollution, but it can be a health problem due to the presence of pathogenic microorganisms. For this reason, in the present study, the objective of isolating and identifying pathogenic bacteria and determining their physicochemical environmental conditions in the stabilization lagoons San José - Lambayeque 2017 was proposed, with the purpose of contributing to the investigation of the efficiency of the treatment and if the water is in optimal conditions to be reused in agriculture.

The water of the 10 stabilization lagoons (5 anaerobic and 5 facultative) was analyzed, in which the pathogenic bacteria *Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Escherichia coli*, *Escherichia blattae* *Providencia* sp, *Salmonella* sp., Were identified. obtained from total coliforms of the anaerobic lagoons exceed the LMP of DS N° 003 - 2010 MINAM, which indicates that the water is not in optimal conditions to be used in agriculture. The following results were also obtained in relation to physicochemical environmental conditions: pH varies between 7-8, Temperature 25-26 °C, dark green color, foul odor due to the presence of organic matter, in DBO<sub>5</sub> (112.7 mg/L) and DQO (234,3 mg/mL) the values obtained exceed the Maximum Limits Permissible of Supreme Decree No. 003-2010- MINAM.

Key words: Pathogenic bacteria, San José stabilization lagoons, environmental conditions.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las lagunas de estabilización San José, pertenecen al Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales de la ciudad de Chiclayo EPSEL S.A., se localizan en el distrito de San José, departamento de Lambayeque, las cuales tienen la función de depurar de las aguas residuales generadas por la población de los distritos de Chiclayo, La Victoria y José Leonardo Ortiz; asimismo en ellas están presentes diferentes bacterias patógenas, las cuales se desarrollan debido a las condiciones ambientales dadas y concentración de materia orgánica.

Por otro lado Podesta, 2003, manifiesta que las lagunas San José reciben las descargas de aguas residuales domésticas e industriales de los distritos de Chiclayo, José Leonardo Ortiz y La Victoria, de tal modo se genera una alta concentración de materia orgánica y de diversos microorganismos patógenos; no obstante dichos residuos son vertidos al mar y son utilizados para la agricultura abarcando el riego de cerca de 400 Ha. siendo la alfalfa, ají, hierba buena, ruda, culantro, camote y lechuga los cultivos más representativos del distrito; mientras que Valencia, 2010, menciona que el uso de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales en la agricultura y acuicultura, son una buena alternativa ambiental que colabora con el manejo integral y sostenible del recurso hídrico, siempre y cuando dicho efluente cumpla con las directrices sanitarias establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En la agricultura del distrito de San José se utilizan las aguas previamente tratadas de las lagunas estabilización, para el riego de diversos cultivos de tallo corto, lo cual a causa del consumo de los mismos altera la salud de la población; de tal modo que se identificará bacterias patógenas y se determinará sus condiciones ambientales de las lagunas de estabilización con la finalidad de contribuir en la investigación de la eficiencia del tratamiento y si el agua está en óptimas condiciones para ser reusada en la agricultura.

Ante la problemática expuesta se formuló el siguiente problema de investigación: ¿Qué tipo de bacterias patógenas existen en las lagunas de estabilización San José – Lambayeque y cuáles son sus condiciones ambientales?, para lo cual se propuso el siguiente **Objetivo general:** Aislar e Identificar bacterias patógenas y determinar sus condiciones ambientales fisicoquímicas en las lagunas de estabilización San José – Lambayeque 2017, teniendo como **Objetivos específicos:** Aislar e Identificar bacterias patógenas en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas San José – Lambayeque 2017 y Determinar las condiciones fisicoquímicas en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas San José – Lambayeque 2017.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Ámbito de estudio

El estudio de investigación se realizó en la Ciudad de Dios, específicamente en las lagunas de estabilización del Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales de la ciudad de Chiclayo EPSEL S.A, distrito de San José, Provincia de Lambayeque, Departamento de Lambayeque (Anexo 1).

### 2.2. Antecedentes bibliográficos

Arnedo, *et al.*, 2012, identificaron bacterias patógenas como: *Salmonella sp*, *Enterobacter sp*, de las muestras analizadas y se observó la presencia de parásitos en el efluente final, por lo tanto representa un riesgo para la salud pública al utilizarse las aguas residuales con fines de irrigación; asimismo Peralta y Bravo, 2013, evaluaron el comportamiento actual de lagunas de estabilización utilizadas para el tratamiento de aguas residuales domésticas de Junín en Argentina, identificaron el funcionamiento de las lagunas y los posibles efectos que inciden en la calidad ambiental del área de intersección, concluyendo que el funcionamiento de las lagunas es inadecuado, debido a que no cumple con la normativa vigente, frente al uso de aguas residuales en la agricultura, identificando coliformes fecales como *Escherichia coli*.

Arango, 2013, manifiesta que los coliformes fecales son comúnmente utilizados como indicadores de contaminación fecal en aguas residuales, su uso en lodos y biosólidos indica la eficiencia de los procesos de tratamiento en la destrucción de bacterias, regula la calidad de los biosólidos que pueden reusarse y son indicadores de la concentración de *Salmonella spp*. De acuerdo con los resultados se encontró que 14 muestras excedieron los límites microbiológicos, cumpliendo solamente 2 muestras con lo establecido para biosólidos clase B, mientras que una muestra cumplió con los límites para clase A.

Gatto, *et al.*, 2014, indican que el efluente tratado en las lagunas de estabilización no tendría restricciones de riego en cuanto a salinidad, permeabilidad y toxicidad, sin embargo su calidad sanitaria es baja, debido a las elevadas concentraciones de coliformes fecales, mientras que Feria y Martínez, 2014, analizaron la peligrosidad del lodo (corrosividad, inflamabilidad y reactividad) y las condiciones de sulfuros, metales pesados, coliformes, salmonella, bacterias mesófilas, áscaris y otros helmintos, antes y después de aplicar una dosis al 10% de cal hidratada con la finalidad de estabilizar químicamente una muestra de lodo del fondo de la laguna primaria del sistema de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Montería; con dicha dosis se logró controlar la reactividad por sulfuros y cianuros, pero no se redujeron las concentraciones de coliformes y de bacterias mesófilas, algunos metales pesados aumentaron pero no representan un peligro ambiental, de acuerdo con la normatividad ambiental vigente.

Becerra y Botello, 1995, identificaron bacterias coliformes fecales, totales y patógenas en agua y sedimentos de un sistema lagunar, entre las bacterias patógenas fueron *Shigella sp*, *Salmonella thyphi*, *S. parathyphi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* y *enterobacter aerogenes*, asimismo las muestras fueron tomadas en distintas estaciones del año. Los datos obtenidos indican que existen variaciones estacionales muy marcadas dentro del sistema lagunar, lo cual permite que exista auto purificación natural en temporadas de menor aporte de estas bacterias. Por otro lado Escobedo *et al.*, 1999, analizaron el oxígeno disuelto, nutrientes, coliformes totales y fecales y sólidos suspendidos; observó la calidad regular del sistema lagunar durante los meses de Marzo, Septiembre, Octubre, diciembre y Enero, debido a los valores de pH fuera de la Norma, el resto del año la calidad fue buena; asimismo las mayores concentraciones de nutrientes se midieron durante el invierno.

Según el estudio de Sánchez y Matsumoto, 2013, investigaron la evaluación del desempeño de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de Sao Joao de Iracema durante las diferentes épocas lluviosa y seca del año, Obtuvieron como resultados una eficiencia media de la remoción de DBO<sub>5</sub> que fue del 78%, siendo esta un valor un poco bajo en cuanto a los límites permisibles de la legislación brasileña siendo esta del 80% para DBO<sub>5</sub> total. Por las variaciones climatológicas en relación de remoción de DBO<sub>5</sub> y sólidos sedimentables, transgredió la norma en lo registrado a NMP de Coliformes Fecales, demostrando la necesidad de implementar un sistema de pos tratamiento donde se reducirá los posibles impactos ambientales producidos por los efluentes.

Asimismo Olea, 2013, evaluó la eficiencia que tienen las lagunas para la depuración de contaminante, realizó nueve muestreos, los cuales fueron el afluente de la planta, el efluente de la laguna anaerobia secundaria, de la laguna facultativa primaria, la laguna facultativa secundaria y el efluente final de la planta se analizaron 12 parámetros; obteniendo que en oxígeno disuelto la concentración registradas a lo largo del estudio fueron de 0,1 mg/L esto para el afluente crudo y el de la laguna anaerobia, mientras que el efluente de la laguna facultativa fue de 1,9mg/L. Los mayores valores de concentraciones se evidenciaron en el periodo de lluvia con un valor en el efluente de la laguna facultativa de 6,2 mg/L, donde es probables que las precipitaciones influenciaron en el incremento de transferencia de oxígeno atmosférico a las masa líquida.

En la investigación de Correa *et al.*, 2012, se realizó cinco muestreos generales y 14 estaciones de muestreos: entrada al 24 sistema, salida de la laguna anaeróbica, salida de la laguna facultativa 1 y 2; salida del sistema total, centro laguna anaeróbica, centro laguna facultativa 1 y 2. Simultáneamente se tomó los datos del caudal, en los 14 puntos se tomaron muestras compuestas para análisis de los siguientes parámetros: DQO, DBO<sub>5</sub>, ST, SS, SD, SSV, S Sed y clorofila. El análisis de la eficiencia en el sistema en general presentó alta remoción en DBO<sub>5</sub> soluble con un valor 92% y en DBO<sub>5</sub> total de 71%.

Por otro lado Chávez, 2017, aplicó monitoreos a la entrada de laguna anaerobia y la salida de la laguna de maduración durante tres meses en época de invierno y verano, los parámetros analizados fueron cuatro, obteniendo resultados promedio del afluente DBO<sub>5</sub> (142,33 mg/l), SST (38,33 mg/l), N (26 mg/l) y CF(90190 NMP/100 ml) basándose en valores referentes débiles presentes en las aguas servidas; los efluentes obtenidos DBO<sub>5</sub> (55 mg/l), SST ( 51,33 mg/l) , N (5,97 mg/l) cumpliendo con la normativa ambiental; sin embargo, los CF ( 61393,33 NMP/100ml) exceden los LMP establecidos por la legislación.

## **2.3. Bases teórico – científicas**

### **2.3.1. Aguas residuales**

Son aquellas aguas cuyas características originales han sido modificadas por actividades humanas y que por su calidad requieren un tratamiento previo, antes de ser reusadas, vertidas a un cuerpo natural de agua o descargadas al sistema de alcantarillado. (OEFA, 2014)

#### **2.3.1.1. CLASIFICACIÓN**

Según la Fiscalización Ambiental en aguas residuales realizada por el Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental (OEFA), 2014, las aguas residuales se clasifican en:

##### **1) Aguas residuales industriales:**

Son aquellas que resultan del desarrollo de un proceso productivo, incluyéndose a las provenientes de la actividad minera, agrícola, energética, agroindustrial, entre otras.



## **2) Aguas residuales domésticas:**

Son aquellas de origen residencial y comercial que contienen desechos fisiológicos, entre otros, provenientes de la actividad humana, y deben ser dispuestas adecuadamente.

## **3) Aguas residuales municipales:**

Son aquellas aguas residuales domésticas que pueden estar mezcladas con aguas de drenaje pluvial o con aguas residuales de origen industrial previamente tratadas, para ser admitidas en los sistemas de alcantarillado de tipo combinado.

### **2.3.1.2. CARACTERÍSTICAS**

Para García, 2012, las aguas residuales presentan las siguientes características:

#### **1) Temperatura:**

Suele ser superior a la del agua de consumo, por el aporte de agua caliente procedente del aseo y las tareas domésticas. Oscila entre 10°C y 21°C, con un valor medio de 15°C, aproximadamente. Esta mayor temperatura ejerce una acción perjudicial sobre las aguas receptoras, pudiendo modificar la flora y fauna de éstas, y dando lugar al crecimiento indeseable de algas, hongos, etc.

#### **2) Potencial de Hidrógeno (pH):**

El valor de pH es determinado fundamentalmente por la actividad fotosintética del fitoplancton y la degradación de la materia orgánica por las bacterias. Las aguas residuales urbanas suelen tener un pH próximo al neutro.

### **3) Color:**

Debe ser gris o pardo, pero debido a los procesos biológicos anóxicos el color puede pasar a ser negro, debido a la cantidad de materias en suspensión que hay en las aguas residuales (limo, materia orgánica y microorganismos). Esta turbidez, en las masas de aguas receptoras, afecta a la penetración de la luz, lo que redundaría en una menor productividad primaria.

### **4) Olor:**

El olor es una importante característica de las aguas residuales debido a que depende de la concentración de materia orgánica y su procedencia. Particularmente tiene olor fétido por la descomposición de materia orgánica.

### **5) Turbidez:**

La turbiedad es una medida de la cantidad de materia en suspensión que interfiera con el paso de un haz de luz a través del agua. Es producida por materias suspendidas como arcilla o materia orgánica e inorgánica finamente dividida, compuestos orgánicos solubles coloreados, plancton y otros microorganismos.

### **6) Nitritos:**

En las aguas residuales el nitrógeno se encuentra en 4 formas básicas: nitrógeno orgánico, amonio, nitritos y nitratos. Asimismo a medida que el agua se estabiliza por estabilización bacteriana en medio aerobio se generan nitratos.

### **7) Aceites y Grasas:**

Los aceites y grasas presentes en agua residuales son indicadores de la procedencia del agua y deben eliminarse en los primeros pasos del tratamiento.

#### **8) Sólidos Totales (ST):**

Se definen como toda la materia que queda como residuo después de someter a evaporación una muestra de agua a temperaturas comprendidas entre 103-105°C y representan la suma de los SDT (Sólidos Disueltos Totales) y SST (Sólidos Suspendidos Totales), además estos poseen fracciones de sólidos fijos y sólidos volátiles, que pueden ser sedimentables y no sedimentables.

#### **9) Sólidos Suspendidos (SS):**

Son aquellos que se encuentran en el agua sin estar disueltos en ellas, pueden sedimentarse o no, son principalmente de naturaleza orgánica; están formados por algunos de los materiales más objetables contenidos en el agua residual. La mayor parte de los sólidos suspendidos son desechos humanos, desperdicios de alimentos, papel, trapos y células biológicas que forman una masa de sólidos suspendidos en el agua.

#### **10) Sólidos Sedimentables:**

Generalmente cerca del 60% del total de sólidos suspendidos en aguas residuales son sedimentables y ocasionan la formación de bancos de lodos que producen olores desagradables.

#### **11) Oxígeno Disuelto (OD):**

El contenido de oxígeno disuelto es uno de los mejores indicadores sobre el funcionamiento de las lagunas, mide la cantidad de oxígeno gaseoso disuelto (O<sub>2</sub>) en una solución acuosa. El oxígeno se introduce en el agua mediante difusión desde el aire que rodea la mezcla, por aeración (movimiento rápido) y como un producto de desecho de la fotosíntesis.

### **12) Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>):**

Es la cantidad equivalente de oxígeno (mg/l) necesaria para oxidar biológicamente los componentes de las aguas residuales, por lo tanto si existe suficiente oxígeno disponible, la descomposición biológica aerobia de un desecho orgánico continuará hasta que el desecho se haya consumido.

### **13) Demanda Química de Oxígeno (DQO):**

Es una prueba usada para medir el material orgánico presente en las aguas residuales, susceptible de ser oxidado químicamente con una solución de bicromato en medio ácido.

### **14) Coliformes fecales:**

Son un subgrupo de bacterias entéricas, que fermentan la lactosa a altas temperaturas de incubación (44,5 °C), por lo que también se les conocen como Coliformes Termotolerantes. Este grupo consiste principalmente en bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter sp.* y *Enterobacter sp.*

Las bacterias Coliformes fecales se localizan naturalmente en el aparato digestivo del hombre y de animales de sangre caliente; por lo tanto, se encuentran en las heces de estos orígenes, pero también algunas pueden hallarse en el ambiente. Las bacterias más frecuentes en las aguas contaminadas son los Coliformes fecales (Ongley, 1997).

Las enfermedades de transmisión hídrica son causadas por bacterias, virus y parásitos (protozoarios y helmintos) que se encuentran en las heces de los individuos infectados y de ahí son las fuentes de contaminación del agua. Se controla los niveles de Coliformes fecales debido a la correlación que existe entre estos y las bacterias patógenas. (Cortes - Lara, 2003).

### 2.3.1.3. PARÁMETROS

Los límites máximos permisibles (LMP) es la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. Su cumplimiento es exigible legalmente por el MINAM y los organismos que conforman el Sistema de Gestión Ambiental.

*Tabla 1: Límites Máximos Permisibles de efluentes*

PARÁMETROS	UNIDAD	LMP DE EFLUENTES
Aceites y Grasas	mg/L	20
Coliformes Termotolerantes	NMP/100mL	10,000
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO <sub>5</sub> )	mg/L	100
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	mg/L	200
pH	Unidad	6.5 – 8.5
Sólidos Totales en suspensión	mL/L	150
Temperatura	°C	<35

Fuente: DS N° 003 MINAM, 2010

### 2.3.2. Tratamiento de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales consiste en una serie de procesos físicos, químicos y biológicos que tienen como fin eliminar los contaminantes físicos, químicos y biológicos presentes en el agua efluente del uso humano.

El objetivo del tratamiento es producir agua limpia (o efluente tratado) o reutilizable en el ambiente y un residuo sólido o fango (también llamado biosólido o lodo) convenientes para su disposición o reuso. Es muy común llamarlo depuración de aguas residuales para distinguirlo del tratamiento de aguas potables. (Pérez y Camacho, 2011)

### **2.3.2.1. TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE SISTEMA DE LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN**

Según CNA, 2007, las lagunas de estabilización, son excavaciones en el suelo donde el agua residual se almacena para su tratamiento a través de la actividad bacteriana con acciones simbióticas de las algas y otros organismos.

#### **1) VENTAJAS Y DESVENTAJAS**

##### **Ventajas:**

- Bajo consumo de energía y costo de operación.
- Bajo costo de construcción.
- Esquemas sencillos de flujo.
- Operación y mantenimiento, simple.
- Remoción eficiente de bacterias patógenas.
- Amortiguamiento de picos hidráulicos, de cargas orgánicas y de compuestos tóxicos.
- Disposición del efluente por evaporación, infiltración en suelo o riego.

##### **Desventajas:**

- Efluente con elevado contenido de algas.
- Su funcionamiento depende de las condiciones ambientales tales como la temperatura, la irradiación solar, viento.

Generación de, olores desagradables y deterioro de la calidad del efluente por sobrecargas de contaminantes, bajo ciertas condiciones climáticas

Contaminación de acuíferos por infiltración, particularmente en lagunas construidas sobre suelos arenosos.

## **2) CLASIFICACIÓN**

Según Romero, 1999, menciona que las lagunas de estabilización se integran por:

### **Lagunas Aerobias:**

Aquellas que reciben aguas residuales que han sido sometidos a un tratamiento y contienen pocos sólidos en suspensión; en ellas se produce la degradación de materia orgánica a través de la actividad de bacterias aerobias, asimismo son poco profundas de 1 a 1.5m de profundidad y suelen tener tiempo de residencia de 20-30 días.

Una laguna aerobia contiene principalmente algas y bacterias en suspensión. El oxígeno liberado por las algas, a través del metabolismo fotosintético, es usado por las bacterias en la descomposición aerobia de la materia orgánica. A la vez, los nutrientes y el dióxido de carbono producidos por la actividad bacteriana son usados por las algas. Otros organismos, como los rotíferos y los protozoarios, tienen como función depurar el efluente.

Las bacterias comúnmente encontradas dentro de las lagunas aerobias son gram negativas perteneciendo a los géneros:

Pseudomonas

Achromobacter

Nitrosomas

### **Lagunas Anaerobias:**

Aquellas con ausencia de O<sub>2</sub> en todo el cuerpo de agua: en estas los procesos de degradación de la materia orgánica se lleva a cabo por bacterias anaerobias. La estabilización anaerobia se define como aquella en que la descomposición se ejecuta en ausencia de oxígeno disuelto y se usa el oxígeno de compuestos orgánicos, nitratos y nitritos, los sulfatos y el CO<sub>2</sub>, como aceptor de electrones.

La digestión anaerobia es capaz de degradar biológicamente sustancias orgánicas complejas en ausencia de oxígeno disuelto: este proceso se realiza en dos fases con auxilio de dos grupos diferentes de bacterias. En la primera fase un grupo de bacterias llamado colectivamente “Bacterias acidófilas” o bacterias formadoras de ácidos, se caracterizan por su capacidad de alimentarse de la materia orgánica cruda; multiplicando su número y generando ácidos orgánicos volátiles (COV), bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y agua para estabilizar la materia orgánica. En la segunda fase, un grupo de bacterias llamadas “Metanógenas” convierten los ácidos orgánicos volátiles a metano (CH<sub>4</sub>), ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) y otros gases.

Las bacterias formadoras de ácidos presentes en las lagunas anaerobias principalmente son:

Clostridium spp.

Peptococcus anaerobus

Bifidobacterium spp.

Corynebacterium spp.

Lactobacillus

Staphylococcus

Escherichia coli



Las bacterias metanógenas ó formadoras de metano que se encuentran en las lagunas anaerobias son:

Methanobacterium

Methanobacillus

Methanococcus

Methano sarcina

### **Lagunas Facultativas:**

Se caracterizan por presentar una condición aerobia en la superficie de la laguna y anaerobia en el fondo de la misma, tienen como finalidad obtener un efluente de mayor calidad posible en el que se haya alcanzado una elevada estabilización de la materia orgánica, asimismo suelen tener una profundidad de 1-2m.

### **2.3.3. Microorganismos patógenos**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) son todos aquellos que son capaces de provocar enfermedades infecciones en el organismo en el cual se encuentran, dentro de los cuales los principales responsables de provocar enfermedades en los organismos son las bacterias, los virus, los protozoos, los hongos y los priones.

#### **2.3.3.1. BACTERIAS PATÓGENAS**

Las bacterias son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria. La mayoría son de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada, como Chlamydias y Rickettsias. Tienen los mecanismos productores de energía y el material genético necesarios para su desarrollo y crecimiento. (Pérez y Mota, 2008)

## 1) CARACTERÍSTICAS

Según Puerta y Mateos, 2010, las bacterias patógenas o enterobacterias presentan las siguientes características:

Son aerobios no forman esporas que pueden crecer en anaerobiosis, reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones), fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o sin ella Son oxidasa-negativos, a excepción de Plesiomonas, también producen catalasa, no ven favorecido su crecimiento por la presencia de NaCl, asimismo la mayoría son móviles (con flagelos peritricos).

## 2) CLASIFICACIÓN

### **Según el tipo de metabolismo respiratorio:**

Aeróbicas: requieren oxígeno.

Anaerobias Estrictas: no requieren oxígeno.

Anaeróbicas Facultativas: pueden requerir o no oxígeno.

### **Según el tipo de nutrición:**

Bacterias autótrofas (producen su propio alimento)

Fotosintéticas: luz solar, agua y CO<sub>2</sub>

Quimiosintéticas: compuestos químicos.

Bacterias heterótrofas (no producen su propio alimento)

Quimioorganotróficas: moléculas orgánicas.

Quimiolitotróficas: moléculas inorgánicas.

**Según la temperatura en que se desarrollan:**

Psicrófilas: crecen  $t^a$  mín=0°C  $t^a$  ópt<15°C  $t^a$  máx<20°C  
Mesófilas: crecen  $t^a$  mín>0°C (8-20°C)  $t^a$  ópt ~ 20-45°C  $t^a$  máx<50-55°C

Termófilas: crecen a  $t^a$ >55°C ( $t^a$  mín>45°C;  $t^a$  ópt ~ 50-80°C)

Hipertermófilas: crecen a  $t^a$ >80°C ( $t^a$  mín>55°C;  $t^a$  ópt ~ 80-106°C)

**Según el pH en que viven:**

Bacterias acidófilas: viven en un pH ácido.

Bacterias alcalinófilas: viven en un pH alcalino.

### **3) MORFOLOGÍA**

Según Vargas, 2014, manifiesta que las bacterias presentan 3 formas básicas: las bacterias esféricas de denominan cocos, las alargadas bacilos y las curvadas espirilos.

**Cocos:**

Estas bacterias tienen forma casi esférica y sus agrupaciones son homogéneas, las cuales pueden ser diplococos, tétradas, sarcinas, estreptococos y estafilococos.

**Bacilos:**

Bacterias forman agrupaciones heterogéneas por su variedad de subtipos morfológicos, pueden ser diplobacilos, estreptobacilos, empalizado y filamentosas.

**Espirilos:**

Se encuentran aquellas bacterias que en su forma presentan una o más curvaturas incluso en algunas presentan forma de hélices; dentro de este grupo se encuentran los vibriones, espirilos y espiroquetas.

**4) CONDICIONES AMBIENTALES DE CRECIMIENTO**

Montes, 2012, manifiesta que las condiciones que favorecen el crecimiento de las bacterias son las siguientes:

**Temperatura:**

La óptima temperatura es de 37° C, que es la temperatura normal del cuerpo humano, por ello son capaces de crecer dentro de nuestro organismo y producirnos enfermedad. Las temperaturas bajas retrasan el crecimiento de los gérmenes, a temperaturas de refrigeración este crecimiento es muy lento, por ello en la nevera los alimentos se conservan durante más tiempo. A temperaturas de congelación se impide la multiplicación de los gérmenes. Las altas temperaturas producen la muerte y destrucción de los microorganismos, así a 65° C mueren gran parte de los gérmenes patógenos y a 100° C se destruyen prácticamente todos los gérmenes

**Humedad:**

El agua es un elemento indispensable para la vida, incluida la de los microorganismos, cuanto mayor sea el contenido en agua de un alimento más fácil será que crezcan en él los gérmenes, contaminándolo y alterándolo.

**Acidez (pH):**

La mayoría de los microorganismos crecen mejor en medios que tengan un pH próximo a la neutralidad.

**Nutrientes:**

Los microorganismos para multiplicarse requieren nutrientes, de los que son ricos los alimentos y por ello es fácil el crecimiento microbiano. Las bacterias necesitan más proteínas y si bien, necesitan azúcares, concentraciones muy altas de azúcar impide su crecimiento, por ello las bacterias crecerán mejor con altos contenidos en proteínas y bajos en azúcares.

**2.4. Marco legal****2.4.1. Decreto Supremo N° 003 MINAM-2010, Aprueba Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales.**

**Artículo 1º.-** Aprobar los Límites Máximos Permisibles para efluentes de las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales, los que en Anexo forman parte integrante del presente Decreto Supremo y que son aplicables en el ámbito nacional.

**Artículo 3º.-** Cumplimiento de los Límites Máximos Permisibles de Efluentes de PTAR

**3.1** Los LMP de efluentes de PTAR que se establecen en la presente norma entran en vigencia y son de cumplimiento obligatorio a partir del día siguiente de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

**3.2** Los LMP aprobados mediante el presente Decreto Supremo, no serán de aplicación a las PTAR con tratamiento preliminar avanzado o tratamiento primario que cuenten con disposición final mediante emisario submarino.

**3.3.** Los titulares de las PTAR que se encuentren en operación a la dación del presente Decreto Supremo y que no cuenten con certificación ambiental, tendrán un plazo no mayor de dos (02) años, contados a partir de la publicación del presente Decreto Supremo, para presentar ante el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento su Programa de Adecuación y Manejo Ambiental; autoridad que definirá el respectivo plazo de adecuación.

**3.4** Los titulares de las PTAR que se encuentren en operación a la dación del presente Decreto Supremo y que cuenten con certificación ambiental, tendrán un plazo no mayor de tres (03) años, contados a partir de la publicación del presente Decreto Supremo, para presentar ante el Ministerio de Vivienda, Construcción y Saneamiento, la actualización de los Planes de Manejo Ambiental de los Estudios Ambientales; autoridad que definirá el respectivo plazo de adecuación.

#### **2.4.2. Ley General de Salud - Ley N° 26842**

##### **De la promoción del Ambiente para la Salud (Cap. VIII).**

**Art. 107.-** El abastecimiento de agua, alcantarillado, disposición de excretas, rehúso de aguas servidas y disposición de residuos sólidos quedan sujetos a las disposiciones que dicta la autoridad de salud competente, la que vigilara su cumplimiento. Reglamento de desagües industriales; (D.L. N° 028 - 80 - SAPL Sedapal).

## **2.5. Definición de términos básicos**

### **Aguas Residuales:**

Son aquellas aguas cuyas características originales han sido modificadas por actividades humanas y que por su calidad requieren un tratamiento previo, antes de ser reusadas, vertidas a un cuerpo natural de agua o descargadas al sistema de alcantarillado. (OEFA, 2014)

### **Aguas residuales municipales:**

Son aquellas aguas residuales domésticas que pueden estar mezcladas con aguas de drenaje pluvial o con aguas residuales de origen industrial previamente tratadas, para ser admitidas en los sistemas de alcantarillado de tipo combinado. (OEFA, 2014)

### **Bacterias:**

Microorganismos invisibles al ojo humano, capaces de multiplicarse y formar colonias, hecho que las hace muy peligrosas para el ser humano. Pueden estar presentes en grandes cantidades en una pequeña superficie del alimento, el que al ser consumido será capaz de causar enfermedad. (FAO, 1992)

### **Bacterias anaerobias:**

Son bacterias que no viven ni proliferan cuando hay oxígeno presente. En los humanos, estas bacterias se encuentran con más frecuencia en el tracto gastrointestinal. (OMS, 1992)

### **Bacterias facultativas:**

Son bacterias que pueden desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, por lo que también se las llama aerobias facultativas o anaerobias facultativas. (OMS, 1992)

**Bacterias patógenas:**

Son aquellos microorganismos que causan enfermedades en el organismo donde se encuentran. (OMS, 1992)

**Condiciones ambientales:**

Son aquellas condiciones o factores presentes en el entorno de un producto o zona de estudio, que determinan el desarrollo de un individuo y la situación actual de la zona. (FAO, 1992)

**Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>):**

Es la cantidad equivalente de oxígeno (mg/l) necesaria para oxidar biológicamente los componentes de las aguas residuales, por lo tanto si existe suficiente oxígeno disponible, la descomposición biológica aerobia de un desecho orgánico continuará hasta que el desecho se haya consumido. (García, 2012)

**Demanda Química de Oxígeno (DQO):**

Es una prueba usada para medir el material orgánico presente en las aguas residuales, susceptible de ser oxidado mediante químicos. (García, 2012)

**Lagunas de estabilización:**

Estanque en el cual se descarga aguas residuales y en donde se produce la estabilización de materia orgánica y la reducción bacteriana. (NORMA OS.090 2006)

**Límites Máximos Permisibles (LMP):**

Los límites máximos permisibles (LMP) es la medida de la concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente. (DS: N°003-2010)



**Microorganismos:**

Seres vivos tan pequeños que sólo se pueden ver a través de un microscopio. Se reproducen en ambientes húmedos y a altas temperaturas. Se trasladan de un lugar a otro a través de las personas, animales u objetos. Existen microorganismos muy peligrosos para el organismo y otros de gran utilidad en la fabricación de alimentos. (FAO, 1992)

**Potencial de Hidrógeno (pH):**

Es una medida de acidez o alcalinidad de una disolución. El pH indica la concentración de iones hidrógeno presentes en determinadas disoluciones. La sigla significa potencial de hidrógeno o potencial de hidrogeniones. (FAO, 1992)

**Temperatura:**

Es una magnitud referida a las nociones comunes de calor medible mediante un termómetro. (FAO, 1992)

**2.6. Hipótesis**

En las lagunas de estabilización San José se encuentran bacterias patógenas de los géneros *klebsiella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Neisseria*, *Serratia*, *Yersenia* y *Shigella* las cuales se desarrollan en condiciones ambientales fisicoquímicas de acuerdo a su metabolismo.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Variables y operacionalización de variables

Bacterias patógenas en las lagunas de estabilización del distrito de San José – Lambayeque

Condiciones Ambientales fisicoquímicas

Tabla 2: Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
VD: Bacterias patógenas en las lagunas de estabilización San José.	Son microorganismos que causan enfermedades en el organismo en el que se encuentren. (OMS)	Bacterias patógenas Aerobias	Géneros: <i>Neisseria</i> , <i>Klebsiella</i> ,	Número de especies
		Bacterias patógenas Anaerobias	Géneros: <i>Serratia</i> y <i>Yersinia</i>	
		Bacterias patógenas Facultativas	Géneros: <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i>	
VI: Condiciones Ambientales Fisicoquímicas	Son los factores que determinan el desarrollo de un individuo.	Condiciones físicas	Color	Observación
			Olor	Percepción
			Temperatura	°C
		Condiciones químicas	pH	Acidez y alcalinidad
			DBO <sub>5</sub>	mg/L
			DQO	mg/L

Fuente: elaboración propia

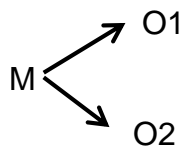
#### 3.2. Tipo de investigación

La investigación es de tipo ex – posfacto.

### 3.3. Diseño de investigación

Según Bernardo y Caldero, 2000, la expresión ex - posfacto hace alusión a que primero se produce el hecho y después se analizan las posibles causas y consecuencias, por lo que se trata de una investigación en donde no se modifica el fenómeno o situación objeto de análisis.

Entonces la presente investigación reúne las condiciones para calificarla como una investigación ex posfacto, debido a la naturaleza y relación entre sus variables sin modificarlas; presenta el siguiente esquema:



Donde M corresponde a: el agua de las lagunas de estabilización de San José

O1 corresponde a las bacterias patógenas existentes

O2 corresponde a las condiciones ambientales fisicoquímicas

### 3.4. Población, muestra de estudio y muestreo

#### POBLACIÓN

La población estuvo constituida por las bacterias aisladas del agua de las lagunas de estabilización de San José.

#### MUESTRA

La muestra de estudio estuvo constituida por 10 unidades de muestreo de agua de las lagunas de estabilización San José, tomadas en las lagunas de acuerdo a su condición (anaeróbicas y facultativas).

Las muestras fueron tomadas en los colectores que unen el sistema. Después de su obtención, las muestras se conservaron en baño de hielo durante su transporte y después preservadas en refrigeración para su posterior uso.

## **MUESTREO**

El muestreo es de tipo no probabilístico por cuotas, debido a que se realiza un estratificado dividiendo las lagunas según su función (anaerobia y facultativa).

Se realizó el muestreo en los meses de Julio, Agosto y Setiembre. Las muestras de agua fueron analizadas en el Laboratorio Multifuncional de la Universidad de Lambayeque.

### **3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de recojo de información**

#### **3.5.1. Aislamiento e identificación de bacterias patógenas**

Se realizó en el Laboratorio Multifuncional de la Universidad De Lambayeque en la ciudad de Chiclayo, mediante los siguientes métodos y técnicas:

#### **MÉTODO: Aislamiento e identificación de bacterias de los géneros: Escherichia, Salmonella, Shigella y otros**

Es un método señalado por Gamazo, *et al.*, 2005, utilizado para identificar enterobacterias, de muestras como: aguas servidas, heces y orina; realizando el procedimiento dado en el diagrama de experimento. (Anexo 2)

## **TÉCNICAS DE MUESTREO:**

### **Codificación, Recolección y Traslado de muestras**

Para la toma de muestra de agua se rotuló los envases con sus etiquetas respectivas, indicando número de muestra, fecha, hora y lugar de ubicación del muestreo. Las muestras se recolectaron de forma manual en frascos con tapa estériles; transportadas en cajas térmicas (cooler) a una temperatura de 4°C e inmediatamente trasladadas al Laboratorio Multifuncional de la Universidad de Lambayeque.

### **Toma de muestra**

El frasco muestreador es de 50 ml de capacidad, consistió en sumergir el frasco de muestreo a unos 20cm debajo de la superficie y lo más distante a la orilla de la laguna de estabilización.

### **AISLAMIENTO DIRECTO DE BACTERIAS PATÓGENAS**

Consistió en diluir la muestra 1/10 en solución fisiológica estéril, se continúa a sembrar con el asa bacteriológica por la técnica del estriado, la muestra diluida directamente en placas de Mc Conkey y SS, incubar las placas a 37° C por 18 – 24 horas, se procede a observar el crecimiento por el desarrollo de bacterias, seleccionar las colonias lactosa positivos (rojas) y negativas (incoloras) de las bacterias para realizar una tinción Gram, observar la morfología de las bacterias y su reacción tintorial, finalmente replicar las colonias lactosa positivas y negativas en tubos con agar cepa para mantenerlos en cultivo puro.

### **AISLAMIENTO INDIRECTO DE BACTERIAS PATÓGENAS CON ENRIQUECIMIENTO DE CULTIVO**

Se sembró 1ml de la muestra en un tubo con caldo selenito o tetrationato, incubar a 37° C por 18 – 24 horas, se procede a observar el cambio de un color rojo ladrillo, debido a la presencia de *Salmonella*, se continuó a sembrar en la superficie del medio SS,

incubar a 37° C por 18 – 24 horas y observar las colonias características:

*Salmonella*: colonias translúcidas e incoloras algunas con centro negro.

*Shigella*: colonias translúcidas e incoloras.

## **IDENTIFICACIÓN: PRUEBAS BIOQUÍMICAS**

Las pruebas bioquímicas según Koneman, 2012, se observan mediante una tabla de identificación de las bacterias patógenas. (Anexo 3)

### **Prueba de catalasa**

### **Prueba de fermentación de carbohidratos glucosa, sacarosa y lactosa:**

Consiste en la inoculación de la cepa en medio TSI (HIERRO TRES AZUCARES), empleando la técnica de picadura y estriado en la superficie inclinada, incubar a 37°C por 24hrs.

Lectura:

Acidez, se manifiesta por el viraje del indicador rojo de fenol a color amarillo. Se simboliza con la letra A.

La presencia de gas, por el resquebrajamiento del medio o burbujas de aire. Se simboliza su intensidad de 1+ a 4+.

La producción de hidrógeno sulfurado (H<sub>2</sub>S) se manifiesta por el color negro en el medio. Se simboliza de acuerdo a su intensidad 1+ a 4+.

La alcalinidad en este medio se manifiesta por el cambio a color grosella y se simboliza con la letra K.

Se interpreta:

La fermentación sólo de la glucosa, se manifiesta por la alcalinidad en la parte inclinada (k) y acidez en el fondo (A). La fermentación de lactosa y/o sacarosa, se manifiesta por el cambio total del medio al color amarillo.

La simbología: A/A ++,- significa:

Acidez en la superficie inclinada, acidez en el fondo, gas positivo, e hidrógeno sulfurado negativo.

La simbología: K/A-,+ significa:

Alcalinidad en la superficie inclinada y acidez en el fondo, gas negativo, e hidrógeno sulfurado positivo.

La simbología: K/A ++, ++++ significa:

Glucosa fermentada, produciendo acidez, gas positivo 2+, e hidrogeno sulfurado positivo 4+.

### **Prueba de utilización de Lisina:**

Se realiza en medio LIA (AGAR LISINA HIERRO), con el asa que se inoculó el medio TSI; se pica el medio hasta el fondo del tubo, terminando en estría en la superficie inclinada, incubar los tubos a 35-37°C por 18-24hrs.

Lectura:

Descarboxilación de la lisina, produce alcalinidad en todo el medio, por lo tanto se intensifica el color violeta. Se simboliza K/K, se considera lisina positiva.

Desaminación de lisina, empieza en la parte inclinada, variando a un color rojo ladrillo, el fondo se torna amarillo. Se interpreta como lisina negativa y se simboliza R/A.

Negativos, es decir no se producen las dos reacciones anteriores. Puede observarse además violeta en la superficie y amarillo en el fondo, también se simboliza K/A; si es totalmente amarillo se simboliza A/A.

### **Prueba de utilización de Citrato:**

Sembrar un tubo con agar citrato, por picadura y superficie inclinada, incubar a 35°C por 48hrs.

Utilización de citrato; medio vira a color azul.

No utiliza citrato; no desarrolla.

**Prueba de Indol:**

Sembrar en el cultivo (SIM)

La lectura se hace por adición de 3 a 5 gotas del reactivo Kovacs.

Interpretación:

Anillo rojo; indol positivo.

Anillo marrón; indol negativo.

**3.5.2. Determinación de condiciones ambientales fisicoquímicas**

**A. La temperatura** se determina mediante termometría realizada “in situ”.

**B. Color, olor y sabor:** Son lo que se denomina propiedades organolépticas o determinables por los sentidos. No suelen ser una medida precisa del nivel de contaminación, aunque su presencia es un indicio de que la depuración de un efluente no está siendo correcta.

**C. Potencial de Hidrógeno (pH):** se determinó mediante el uso de cintas peachímetras, el cual indica el nivel de acidez o alcalinidad del agua analizada.

**D. Demanda Química de Oxígeno (DQO):**

Se usó el método de digestión en sistema cerrado, el cual se trabajó con 2 procesos:

**Proceso de Digestión:** en la cual se trabajó con 2 soluciones: el blanco y la muestra de agua de las lagunas de estabilización. Para la solución blanco se colocó en un tubo de digestión 3 ml de agua destilada, además de 3 mL de solución digestora (Dicromato de Potasio) y 3 mL de solución catalizadora (Ácido



Sulfúrico), y se homogeneizo. Para la muestra se colocó en un tubo de digestión 3 mL de agua de la muestra, además de 3 mL de solución digestora (Dicromato de Potasio) y 3 mL de solución catalizadora (Ácido Sulfúrico), y luego se homogeneizo. En este último proceso se formó una coloración ámbar. Luego los 2 tubos de digestión se colocaron en el block de calentamiento a 150 °C en 2 horas.

**Proceso de Tinción:** en este proceso se colocó tanto el blanco como la muestra en 2 Matraces Erlenmeyers, uno en cada matraz, luego se colocó a cada uno 6 gotas del reactivo indicador (Ferroina), el color que se formó en la reacción fue verde oscuro. Luego se colocó el sulfato ferroso amoniacal para la tinción, en este proceso se obtuvo un color rojizo.

La demanda química de oxígeno se determina como:

$$mgDQO/L = \frac{(A - B) \times 0.33 \times 8000}{ml\ muestra}$$

Dónde:

A= Volumen de FAS usado para el blanco (ml)

B= Volumen de FAS usado para la muestra (ml)

#### **E. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>):**

Se usó el método de incubación de 5 días, trabajando con 4 procesos:

**Preparación del agua de dilución:** como primer paso se preparó el agua en dilución, para esto se midió primero el volumen de agua destilada necesaria, la cual debe tener una fuente de aire comprimido por una

bomba para mantener el agua saturada de oxígeno. Se le adiciono 1 ml de cada una de las siguientes soluciones por litro de agua: Cloruro Férrico, Cloruro de Calcio, Sulfato de Magnesio, Buffer de Fosfatos y luego se homogeneizo la mezcla.

**Técnica de Dilución:** teniendo en cuenta el valor obtenido de DQO, se realizó la dilución, la cual se hizo 2 muestras en las botellas Winkler, cada una. En la siguiente tabla explica que porcentajes se debe usar a partir del valor obtenido de DQO.

*Tabla 3:* Relación de diluciones a partir de los valores de DQO

DQO	Dilución
5-10	Directa al 50%
10-15	50% y 30%
15-25	30% y 15%
25-50	15% y 5%
50-100	10% y 5%
100-200	2% y 1%
400-800	1% y 0.5%

Por ejemplo, si la muestra de DQO arrojó 75 ppm, entonces se realizará 2 muestras con las diluciones indicadas, una de 10% y otra de 5%, si el envase con el que se trabajara es una botella Winkler de 300 ml, entonces en una botella se colocara 30 ml de la muestra de agua obtenida en las lagunas de estabilización y se le adicionará los 270 ml de agua de dilución y en la otra 15 ml de muestra de agua de las lagunas de estabilización y 285 ml de agua de dilución.

**Toma de Oxígeno Disuelto a tiempo Cero:** una vez que se tuvo las dos muestras en dilución, se midió el nivel de oxígeno disuelto que contenían, antes de colocarlo en la incubadora a 20 °C durante 5 días, para esto se usó un oxímetro marca DIGIMED.

**Toma de Oxígeno Disuelto luego de 5 días:** luego de los 5 días en la incubadora a 20 °C, se retiraron las muestras y se midió el nivel de oxígeno disuelto.

Cálculos:

$$DBO_5 \text{ mg/L} = \frac{(OD_i - OD_f) \times V}{T}$$

Donde:

OD<sub>i</sub> = concentración de oxígeno disuelto inicial

OD<sub>f</sub> = concentración de oxígeno disuelto final

V = capacidad de la botella (300 ml)

T = mL de muestra tomadas para la dilución

### **3.6. Procesamiento de datos y análisis estadísticos**

Para llevar a cabo la presente investigación los datos obtenidos se organizarán de acuerdo a la estadística descriptiva, como tablas y figuras, las cuales serán elaboradas utilizando los programas de software (Word 2013, Excel 2013) permitiendo la obtención de resultados satisfactorios.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Características del ámbito de estudio

Las lagunas de estabilización San José, pertenecen al Sistema de Tratamiento de Aguas Residuales de la ciudad de Chiclayo EPSEL S.A., las cuales son 10 y se dividen en 5 anaerobias y 5 facultativas, las cuales se encuentran ubicadas en Ciudad de Dios.

El efluente final del sistema de tratamiento es utilizado para el riego de cultivos de tallo como el camote, lechuga, culantro, alfalfa, hierba buena, entre otros, los cuales son consumidos por la población ocasionando daños a la salud.

### 4.2. Aislamiento e identificación de bacterias patógenas

Se realizó el aislamiento de bacterias de las 10 lagunas de estabilización, las cuales están agrupadas por su función (5 anaerobias y 5 facultativas) (tabla 4), asimismo se determinó que no están dentro de los LMP del Decreto supremo N° 003 MINAM-2010 (agua de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales). (Figura 1)

Tabla 4: Bacterias Patógenas identificadas

Lagunas de estabilización	Código	Bacterias patógenas identificadas
Anaerobias	A1	<i>Citrobacter sp.</i>
	A2	<i>Citrobacter sp.</i>
	A3	<i>Escherichia Coli</i>
	A4	<i>Enterobacter sp</i>
	A5	<i>Escherichia blattae</i>
Facultativas	F1	<i>Providencia sp.</i>
	F2	<i>Providencia sp.</i>
	F3	<i>Enterobacter sp</i>
	F4	<i>Citrobacter sp.</i>
	F5	<i>Salmonella sp.</i>

Fuente: Elaboración propia

*Citrobacter sp*: es un género de bacterias del grupo de bacilos Gram negativos anaerobios facultativos, se encuentran frecuentemente en el agua, suelo, comida y en la flora del tracto intestinal de animales y del hombre. En los seres humanos produce infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales.

*Escherichia coli*: es una bacteria Gram negativa anaerobia facultativa con forma de bacilo, se encuentra en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente. Es uno de los organismos patógenos más relevantes en el humano, tanto en la producción de infecciones gastrointestinales como de otros sistemas (urinario, sanguíneo, nervioso).

*Enterobacter sp*: es un género de bacterias Gram negativas facultativamente anaeróbicas, viven en la materia orgánica muerta o viven en el ser humano como parte de una población microbiana normal. Causa infección del tracto urinario y del tracto respiratorio.

*Providencia sp*: es un género de bacterias Gram negativas anaerobios facultativos, son patógenos oportunistas en humanos y pueden causar infecciones urinarias, algunas especies son resistentes a la ampicilina.

*Salmonella sp*: es un género de bacterias Gram negativas anaerobios facultativos, constituye un grupo importante de patógenos para animales y humanos. Se encuentra en las pieles de los animales, en humanos producen la enfermedad salmonelosis la cual se transmite en los alimentos de origen animal.

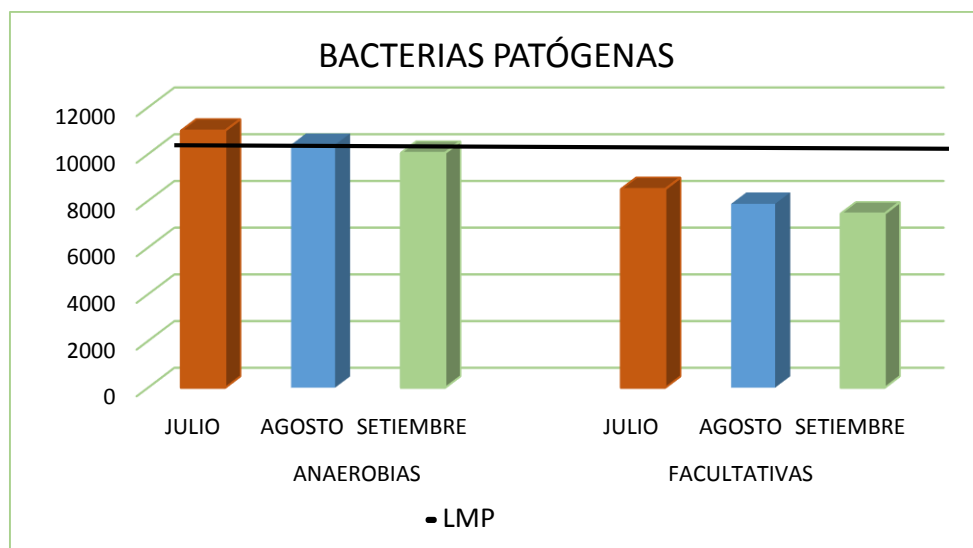


Figura 1: Valores obtenidos de los efluentes de las lagunas de estabilización en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017.

### 4.3. Determinación de condiciones ambientales

#### 4.3.1. Temperatura:

Se determinó que los valores de temperatura obtenidos se encuentran dentro de los valores establecidos por el Decreto supremo N° 003 MINAM-2010 (agua de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales.  $T^{\circ} < 35$ ). (Figura 2)

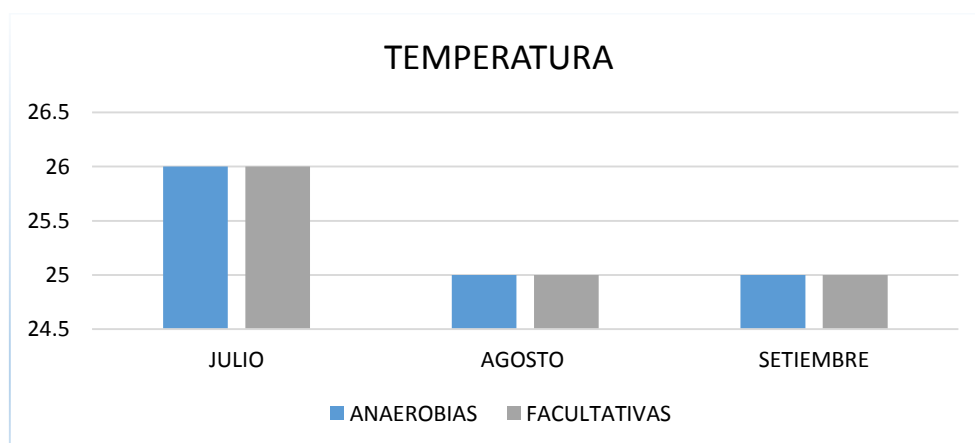


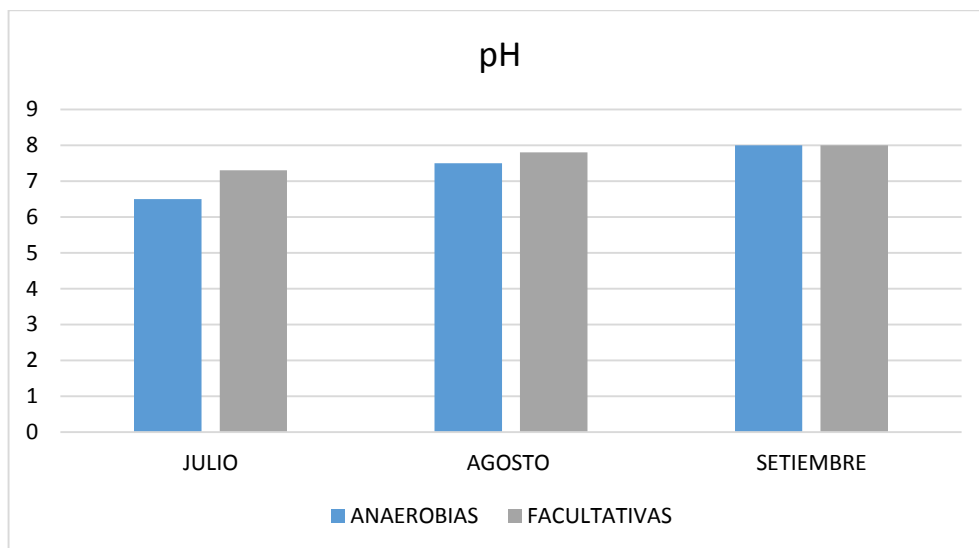
Figura 2: Valores de temperatura obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas.

#### 4.3.2. Color, olor:

El agua de las lagunas de estabilización se torna verde oscuro y turbia con olor fétido por la presencia de materia orgánica.

#### 4.3.3. Potencial de Hidrógeno (pH):

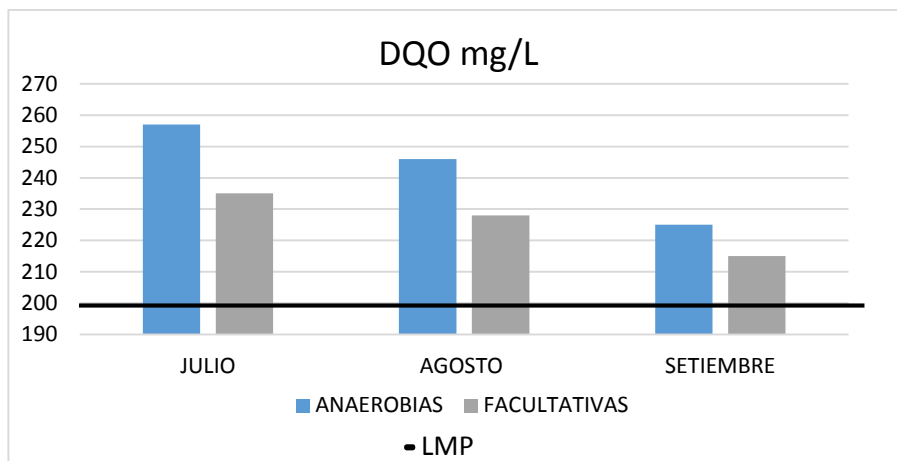
Se determinó que los valores obtenidos están dentro de los límites establecidos por el Decreto supremo N° 003 MINAM-2010 (agua de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. pH 6.5 - 8.5). (Figura 3)



*Figura 3:* Valores de pH obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas.

#### 4.3.4. Demanda Química de Oxígeno (DQO):

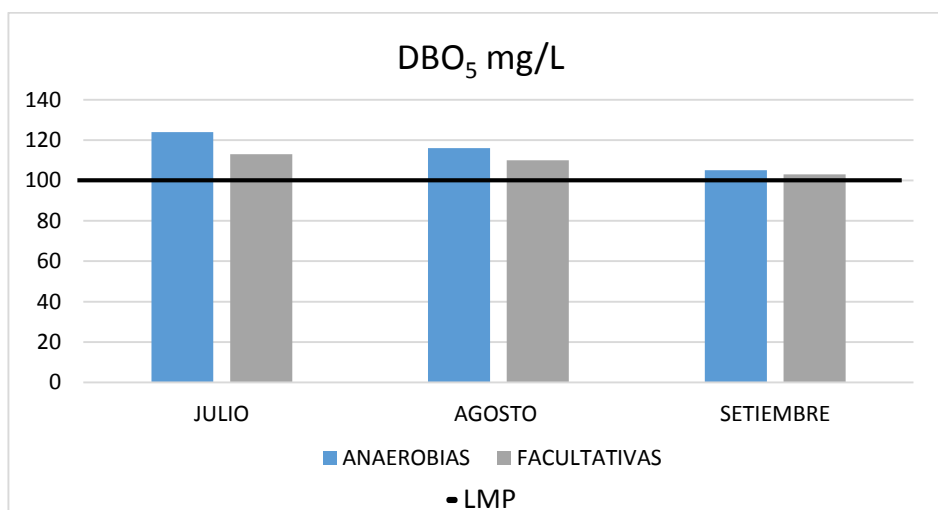
Los valores obtenidos no están dentro de los LMP establecidos por el Decreto supremo N° 003 MINAM-2010 (agua de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. DQO 200mg/L). (Figura 4)



*Figura 4:* Valores de DQO obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas.

#### 4.3.5. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>):

Los valores obtenidos no están dentro de los LMP establecidos por el Decreto supremo N° 003 MINAM-2010 (agua de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales. DBO<sub>5</sub> 100mg/L). (Figura 5)



*Figura 5:* Valores de DBO<sub>5</sub> obtenidos en los meses de Julio, Agosto y Setiembre del 2017, en las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas.



## V. DISCUSIÓN

Arnedo *et al*, 2012, identificaron bacterias patógenas como: *Salmonella sp*, *Enterobacter sp*, de las muestras analizadas, por lo tanto representa un riesgo para la salud pública al utilizarse las aguas residuales con fines de irrigación; asimismo Becerra *et al*. 1995, identificaron las bacterias patógenas *Shigella sp*, *Salmonella thyphi*, *S. parathyphi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp* y *enterobacter aerogenes*, que representan riesgo de salud pública; esto concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, en donde se identificó las bacterias patógenas, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Escherichia blattae*; *Providencia sp.*, *Salmonella sp.*, las cuales por sus características representan un riesgo para la salud pública al estar presentes en las aguas de las lagunas que son utilizadas en el riego de cultivos de tallo corto como el culantro, camote, lechuga y hierba buena del distrito de San José.

Arango, 2013, manifiesta que los coliformes fecales son comúnmente utilizados como indicadores de contaminación fecal en aguas residuales, tal información concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio, dado que se identificaron las bacterias coliformes fecales como *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Escherichia blattae*;; lo cual indica que las aguas de las laguna de estabilización San José presentan contaminación fecal.

Escobedo *et al.*, 1999, observaron la calidad regular del sistema lagunar durante los meses de Marzo, Septiembre, Octubre, diciembre y Enero, debido a los valores de pH fuera de la Norma, el resto del año la calidad fue buena; asimismo las mayores concentraciones de nutrientes se midieron durante el invierno, lo cual difiere con el presente estudio dado que los niveles de pH en los meses de Julio, Agosto y Setiembre no pasan los valores establecidos en el DS N° 003 – 2010 MINAM.

En la investigación de Correa *et al.*, 2012, se realizó muestreos generales en el centro laguna anaeróbica, centro laguna facultativa para análisis de los siguientes parámetros: DQO, DBO<sub>5</sub>, ST, SS, SD, SSV, S Sed y clorofila. El análisis de la eficiencia en el sistema en general presentó alta remoción en DBO<sub>5</sub> soluble con un valor 92% y en DBO<sub>5</sub> total de 71%; esta información difiere a la obtenido en la presente investigación debido a que el nivel de DBO<sub>5</sub> (112.7 mg/L) y DQO (234,3 mg/mL) superan los LMP del DS N° 003 – 2010 MINAM, y no presentan alta remoción.

A nivel de DBO<sub>5</sub> y Coliformes fecales y termotolerantes se obtuvo resultados promedio de (112.7 mg/L) y CF (10483.3 NMP/100 mL), sobrepasando los LMP del DS N° 003 – 2010 MINAM, asimismo Chávez, 2017, obtuvo resultados promedio de DBO<sub>5</sub> (142,33 mg/l), y CF (90190 NMP/100 ml) exceden los LMP establecidos por la legislación.

## VI. CONCLUSIONES

De las lagunas de estabilización San José, en las lagunas anaerobias se identificaron las bacterias *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Escherichia blattae*; en las lagunas facultativas se identificaron las bacterias *Providencia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Salmonella sp.*, *Citrobacter sp.*; asimismo los valores obtenidos de coliformes totales (10483.3 NMP/100 mL) de las lagunas anaerobias superan los LMP del DS N° 003 – 2010 MINAM.

Se determinó las condiciones ambientales fisicoquímicas de las lagunas de estabilización San José, en donde se obtuvo los valores promedio de los parámetros de Temperatura (25.5 °C), pH (7.5), olor fétido, color verde oscuro, los cuales no sobrepasan los Límites Máximos Permisibles del DS N° 003 – 2010 MINAM; asimismo los valores promedio de DBO<sub>5</sub> (112.7 mg/L) y DQO (234,3 mg/mL) de las lagunas anaerobias y facultativas superan los valores establecidos por el DS N° 003 – 2010 MINAM, de tal modo son factores que permiten el desarrollo óptimo de las bacterias patógenas, las cuales afectan directamente en la salud de los pobladores del distrito de San José, dado que los cultivos de tallo corto entre ellos el camote, lechuga, culantro son regados con las aguas del efluente final de dichas lagunas.

## **VII. RECOMENDACIONES**

Utilizar nuevos métodos y medios de cultivo para aislar e identificar bacterias patógenas y diversos microorganismos que no han sido identificados en ésta investigación, porque sólo se utilizaron los medios de cultivo Salmonella Shigela y Agar MacConkey, debido al bajo presupuesto para tal fin.

Realizar nuevas investigaciones de las condiciones ambientales de las lagunas de estabilización con la finalidad de analizar las variables intervinientes del presente estudio; dado que en el proceso de recolección de muestras de agua, se observaron otros factores como la presencia de aves en las lagunas, las cuales modifican las características de las aguas residuales.

Realizar un inventario de las especies de cultivo de tallo corto, las cuales son regadas con el efluente final de las lagunas de estabilización, con la finalidad de profundizar la investigación y tener conocimiento del tipo de especies que son comercializadas a la población y causan daños a la salud pública.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arnedo, I., Bracho, M., Díaz – Suárez, Odelia y Botero, L., (2012). Técnicas para la detección de *Cryptosporidium* sp. En sistemas de Tratamiento de agua residual. *Kasmera* 2(36). P. 120 – 128
- Atlas, R y Bartha, R. (2006). Ecología Microbiana y Microbiología ambiental. España. *Edit. Person education S.A. España.*
- Botero, L., Zambrano, L., Oliveros, C., León, D., Sarcos, M. y Martínez, M., (2002). Calidad Microbiológica del agua de un sistema de lagunas de estabilización a ser empleada en irrigación. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 19. P. 312 – 323
- Chávez, E, (2017), Evaluación de la eficiencia de las lagunas de estabilización en la planta de tratamiento de aguas servidas en la ciudad de Balzar de la provincia del Guayas. Tesis de grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo-Ecuador.
- Comisión Nacional del Agua. (2007). Lineamientos técnicos para la elaboración de estudios y proyectos de agua potable y alcantarillado sanitario. Perú.
- Correa, G., Cuervo, H., Mejía, R. y Aguirre, N., (2012), de estabilización del municipio de Santa Fé de Antioquia, Colombia. Artículo: Producción + Limpia - Julio - Diciembre de 2012. Vol.7, No.2 – 36-51.
- Cortes, M, (2003). Importancia de los Coliformes fecales como indicadores de contaminación en la Franja Litoral de Bahía de Banderas. México. *Rev. Biomed* 14: 121-123.

Decreto Supremo N° 003 – MIMAM 2010, (2010). Decreto supremo que Aprueba Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales Domésticas o Municipales. *Diario El Peruano*.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (1992). Portal Terminológico. Estados Unidos.

Feria, J. y Martínez, L., (2014). Tratamiento de lodos de fondo de lagunas facultivas con estabilización en condiciones de laboratorio. *Revista EIA*, ISSN. 11(11). P. 113 – 122

Gamazo, C., López, I. y Díaz, R. (2005). Pruebas Bioquímicas para la Identificación bacteriana. Manual de Práctico de Microbiología. Barcelona, España. Elsevier Masson.

Gatto, L., Garcés, V., Salas, G., Liberal, V., Rodríguez, S. y Seghezzo, L., (2014). Reúso de aguas residuales domésticas en la actividad agropecuaria el caso de Cafayate, Salta. *Asociación Argentina de Energías Renovables y Medio Ambiente*. 2. P. 31- 40

Koneman, F. (2012). Manual de Pruebas Bioquímicas y bacteriología. Perú.

Monserate, C. y Peralta, K., (2013). Lagunas de estabilización para el tratamiento de las aguas residuales de la ciudad de Junín y la calidad ambiental del área intersectada. Tesis de grado. Escuela Superior Politécnica Agropecuarias de Manabí, Calceta, Ecuador.

Nelson, L. y Jiménez, B., (2000). Concentración e inactivación de Patógenos en los lodos de las lagunas de estabilización en México.

Norma SO.090, (2006). Norma Técnica de Edificación S.090 de Plantas de Tratamientos de Aguas Residuales. Perú.

OEFA (Organismo de Evaluación y Fiscalización Ambiental), (2014). Ministerio del Ambiente. Aguas Residuales. Perú.

Olea, R. (2013). Evaluación de la planta de tratamiento de aguas residuales del municipio de Coatepec, Veracruz. Tesis de acreditación de experiencia educativa. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Veracruzana, Veracruz, México.

Ongley, E. (1997). Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos. En: Estudios FAO: Riego y drenaje - 55 1997 W2598/S. Canadá.

OMS (Organización Mundial de la Salud, US), (2006). Agua, saneamiento y salud: Enfermedades relacionadas con el agua.

Podesta J, (2003). Mapa De Peligros De San José, San José, Perú.

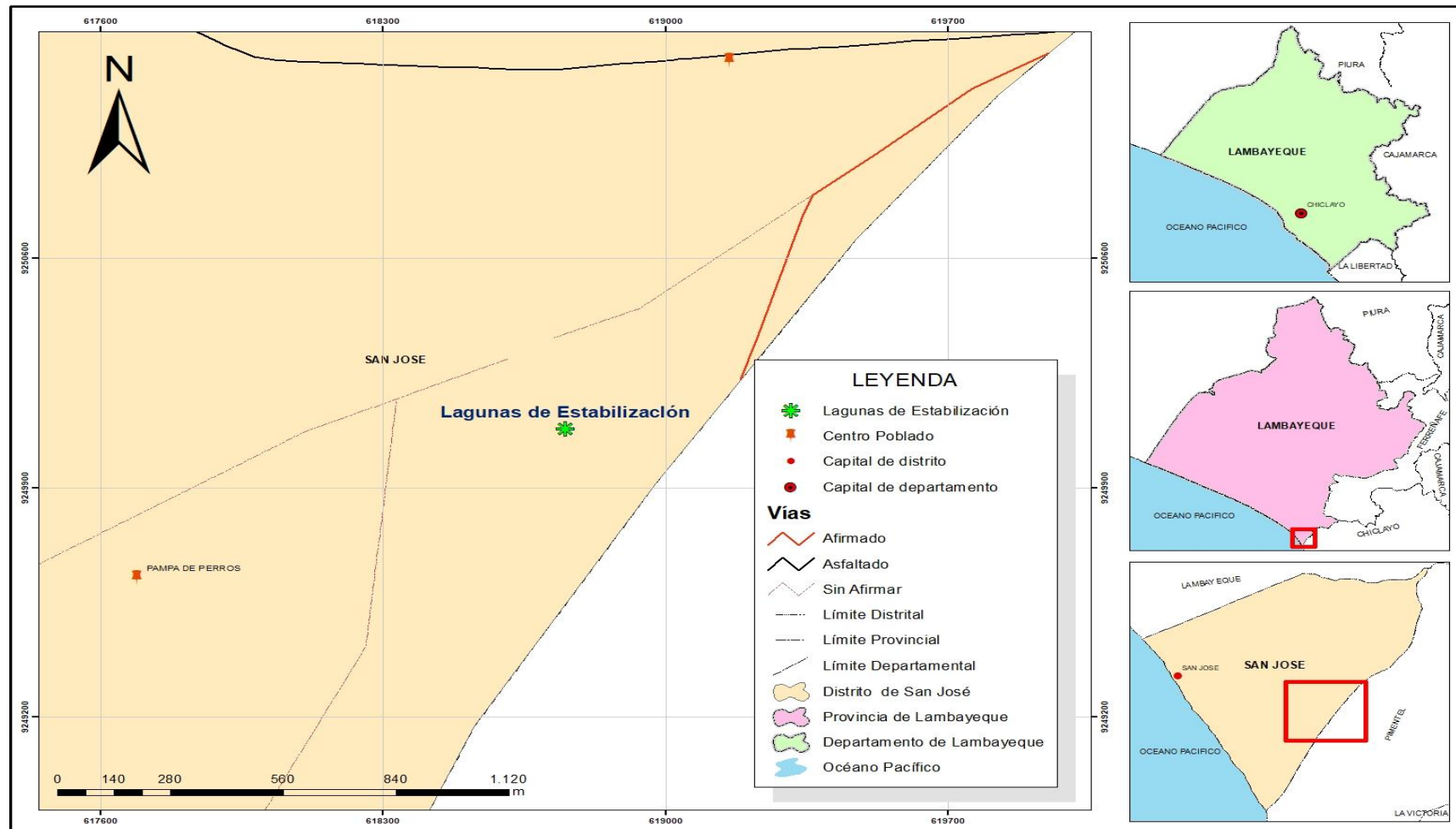
Sánchez, I. y Matsumoto, T., (2013). Estudio de Barimetría de un sistema de lagunas de estabilización. *Revista de ciencias Agrícolas*. 1(30). P. 65 – 78

Saracho, M., Flores, M., Monferran, C., Rodríguez, C. e Iriarte, A. (2010). Lagunas de Estabilización de Catamarca Evaluación de su funcionamiento. *Asociación Argentina de Energías Renovables y Medio Ambiente*. 14.

Valencia, E., Aragón, R. y Romero, J., (2012). Potencial de reutilización del efluente de la Planta de tratamiento de aguas residuales de Nátaga en cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*). *Rev. Act. E. Div. Cient.* 1(15). P. 77 – 86

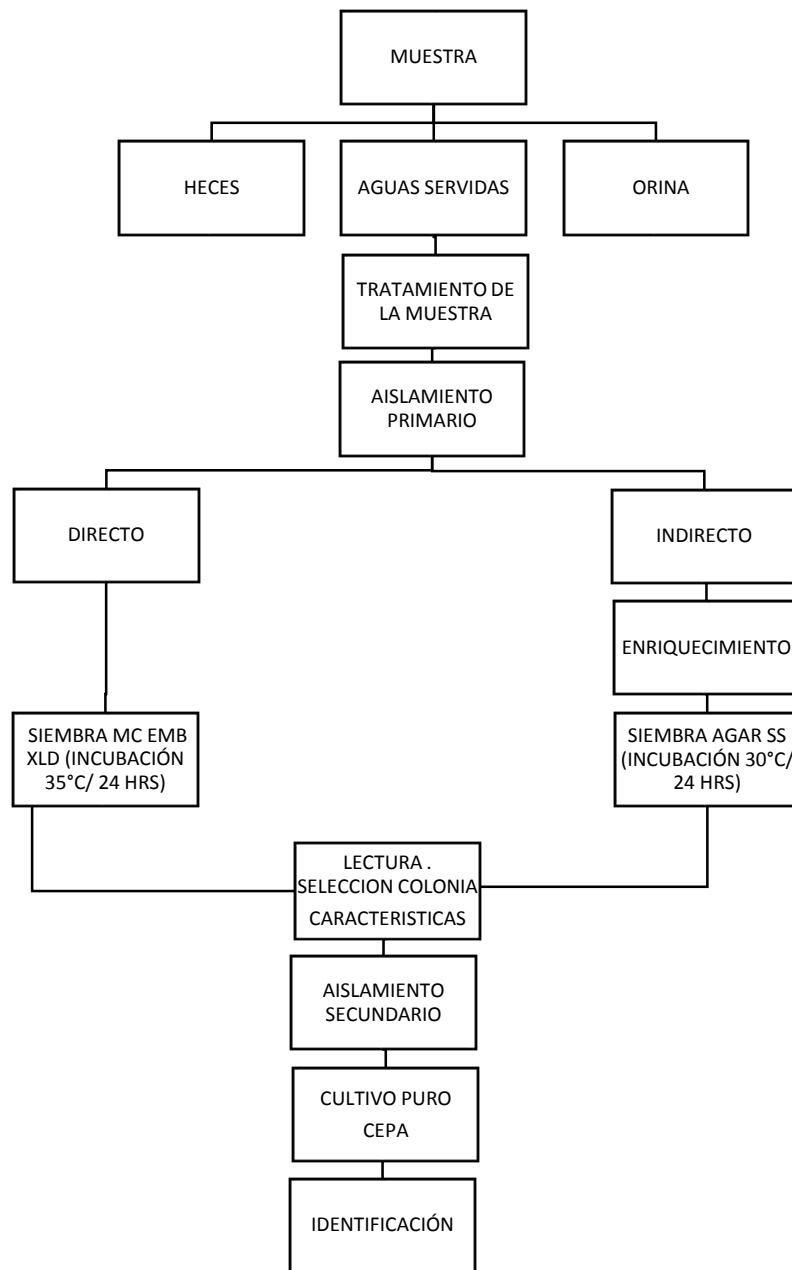
## IX. ANEXOS

### Anexo 1: Mapa de ubicación de las lagunas de estabilización San José





## Anexo 2: Diagrama de Metodología



*Figura 6:* Diagrama del MÉTODO: Aislamiento e identificación de bacterias de los géneros: Escherichia, Salmonella, Shigella y otros; adaptado por Francia, 2015

### Anexo 3: Comportamiento bioquímico en la identificación enterobacterias

Tabla 5: Comportamiento bioquímico en la identificación de los géneros de la familia enterobacteriaceae

PRUEBA	C	En	E	K	M	P	Pr	S	Se	Sh
Utilización de citrato	+	+	-	+	+	±	+	±	+	-
Gas de glucosa	+	+	+	±	±	±	±	±	±	-
Glucosa (acidez)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H <sub>2</sub> S	±	-	-	-	-	+	-	±	-	-
Producción de indol	±	-	+	±	+	±	+	-	-	±
Lisina descarboxilasa	-	±	+	+	-	-	-	+	+	-
Sacarosa	±	-	±	+	-	±	±	-	+	-
Fermentación en TSI	A	A	A	A	Alc	Alc	Alc	Alc	Alc (A)	Alc
	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	A	A

Fuente: Koneman, 2012

<i>C. Citrobacter</i>	<i>M. Morganella</i>	<i>Se. Serratia</i>
<i>En. Enterobacter</i>	<i>P. Proteus</i>	<i>Sh. Shigella</i>
<i>E. Escherichia</i>	<i>Pr. Providencia</i>	<i>A. acidez</i>
<i>K. Klebsiella</i>	<i>S. Salmonella</i>	<i>G. gas</i>

Tabla 6: Comportamiento bioquímico en la identificación de algunas especies de la familia enterobacteriaceae

PRUEBA	Cf	Cd	Pv	Pm	Ec.	Eh.	Eb.	En.a.	En.c.
Indol	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Citrato	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H <sub>2</sub> S	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Gas de glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Fuente: Koneman, 2012

<i>Cf. Citrobacter freundii</i>	<i>Eh. Escherichia hermanii</i>
<i>Cd. citrobacter diversus</i>	<i>Eb. Escherichia blalloe</i>
<i>Pv. Proteus vulgaris</i>	<i>En.a. Enterobacter aerogenes</i>
<i>Pm. Proteus mirabilis</i>	<i>En.c. Enterobacter cloacae</i>
<i>Ec. Escherichia coli</i>	

#### Anexo 4: Zona de estudio



Figura 7: Zona de muestreo: Lagunas de estabilización.

## Anexo 5: Toma de muestras



*Figura 8:* Toma de muestras de agua de las lagunas de estabilización anaerobias y facultativas.

## Anexo 6: Muestras de agua de las lagunas de estabilización San José



*Figura 9:* Las muestras tomadas son rotuladas y llevadas a Laboratorio Multifuncional.



## Anexo 7: Procesamiento de Muestras



*Figura 10:* Diluciones, las cuales se llevaron a cabo utilizando como cultivo Caldo Nutritivo y Caldo Brilla, se deja encubar por 24h a 37°C.

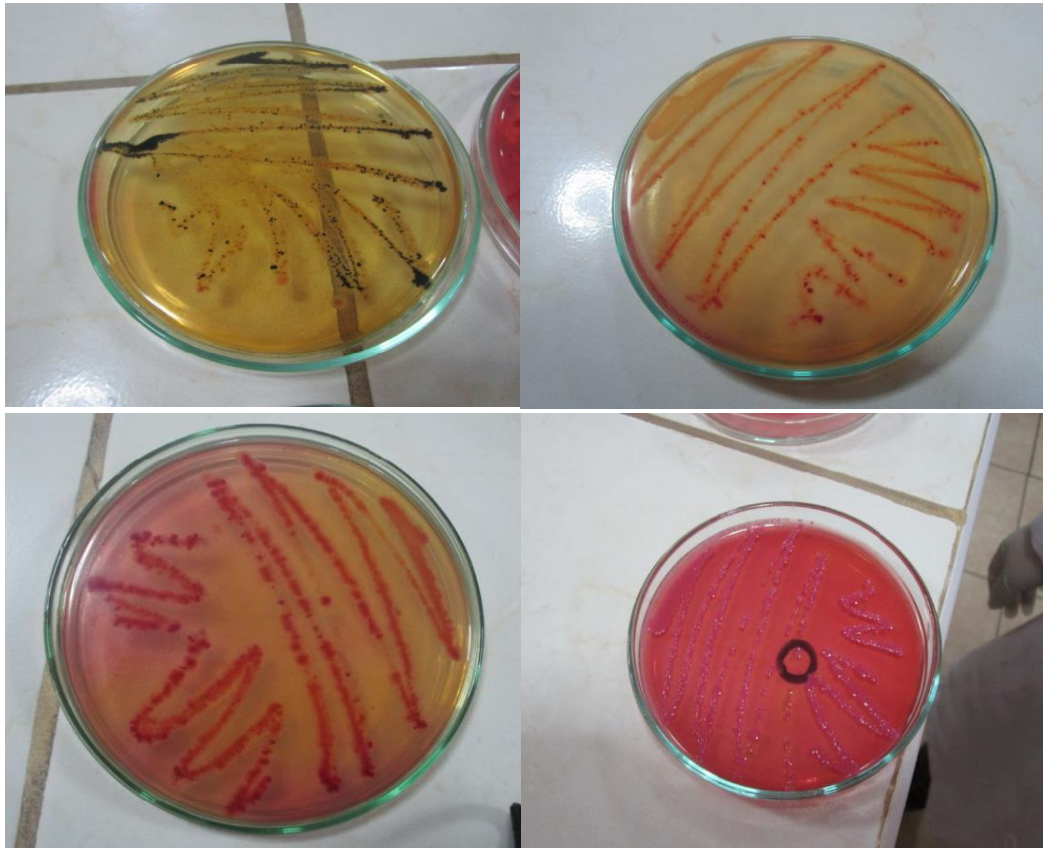


*Figura 11:* Medición de pH a cada una de las muestras, utilizando cintas peachímetros.



*Figura 12:* Siembra en placas Petri con medio de cultivo Agar Salmonella Shigela y Agar MacConkey, se encuba por 24h a 37°C.





*Figura 13:* Crecimiento de colonias bacterianas en placas Petri con medio de cultivo Agar Salmonella Shigela y Agar MacConkey



*Figura 14:* Pruebas bioquímicas, mediante su lectura se identifica las bacterias patógenas.

## Anexo 8: Pruebas bioquímicas de bacterias aisladas de las lagunas de estabilización San José

Tabla 7: Pruebas bioquímicas

LAGUNA	MEDIO DE CULTIVO	COLONIAS	SIM			TSI			LIA			CITRATO	BACTERIA
			H <sub>2</sub> S	Moti.	Indol	Simb.	Gas	H <sub>2</sub> S	Simb.	Gas	H <sub>2</sub> S		
A1	Agar Salmonella Shigella	Negra	-	+	+	A/A	+	-	K/A	-	+	+	<i>Citrobacter sp.</i>
A2	Agar Salmonella Shigella	Negra	++++	+	+	A/A	++	+++	K/A	-	+	+	<i>Citrobacter sp.</i>
A3	Agar MacConkey	Rosada	-	+	+	A/A	+	-	K/A	-	-	-	<i>Escherichia Coli</i>
A4	Agar MacConkey	Rosada	-	+	-	A/A	+	-	K/A	-	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
A5	Agar MacConkey	Rosada	-	+	-	A/A	+	-	K/A	-	-	-	<i>Escherichia blattae</i>
F1	Agar MacConkey	Amarilla	-	+	+	A/A	++	-	K/A	-	-	+	<i>Providencia sp.</i>
F2	Agar MacConkey	Rosada	-		+	A/A	+	-	K/A	-	-	+	<i>Providencia sp.</i>
F3	Agar Salmonella Shigella	Negra	-	+	-	A/A	+	-	K/A	-	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
F4	Agar MacConkey	Amarilla	++++	+	+	A/A	++	+++	K/A	-	+	+	<i>Citrobacter sp.</i>
F5	Agar Salmonella Shigella	Negra	++++	+	-	A/A	+	+++	K/A	-	+	+	<i>Salmonella sp.</i>

\*Adaptación de Pruebas bioquímicas señaladas en el Manual de Koneman, 2012